



TITLE:

# Transcriptional regulation of hepcidin by molecules mediating inflammatory responses( Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

Kanamori, Yohei

---

CITATION:

Kanamori, Yohei. Transcriptional regulation of hepcidin by molecules mediating inflammatory responses. 京都大学, 2018, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21135>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

( 続紙 1 )

京都大学	博士（農学）	氏名	金森 耀平
論文題目	Transcriptional regulation of hepcidin by molecules mediating inflammatory responses (炎症反応仲介分子によるヘプシジン転写の調節)		
(論文内容の要旨)			
<p>肝臓が発現するヘプシジンは血中鉄濃度を負に制御するホルモンであり、鉄恒常性は体内鉄量の増加に応じたヘプシジン発現の誘導により維持されている。炎症もヘプシジン発現を誘導する要因であり、ヘプシジンは感染症や炎症性疾患において併発することが多い炎症性貧血に関わっている。炎症時のヘプシジン発現誘導機構の一つに、炎症性サイトカインであるインターロイキン(IL)-6 による誘導がある。IL-6 によりリン酸化された STAT3 がヘプシジンプロモーター上の結合配列(STAT-BS)に結合することで、ヘプシジン転写は亢進する。しかし、IL-6 以外のサイトカインや、STAT3 以外のシグナル経路を介した炎症によるヘプシジン発現誘導機構については未解明な点が多い。本論文は、炎症により発現が誘導あるいは活性化される転写因子である AP-1 群及び炎症性サイトカインであるアクチビン B あるいは IL-1β が、ヘプシジン発現を誘導する機構の解明を目的とした。</p> <p>第 I 章では、研究の背景と目的を示した。</p> <p>第 II 章では、AP-1 の発現を誘導する典型的な方法である血清刺激を利用し、AP-1 とヘプシジン発現の関係を解明した。血清刺激によりラット初代肝実質細胞においてヘプシジン遺伝子発現が増加した。ヘプシジンプロモーター上の STAT-BS と AP-1 応答配列である TRE を同時に変異させると、レポーター遺伝子の血清応答性が消失したことから、血清刺激時には STAT-BS と TRE が協調的に作用してヘプシジン転写を誘導することが明らかになった。また、AP-1 転写因子群である c-fos ならびに junB の遺伝子発現は血清刺激に伴い増加したが、c-fos あるいは junB の機能喪失変異型を過剰発現させると血清応答性が低下したことから、血清刺激によるヘプシジン転写の誘導には c-fos、junB の発現増加が関与することが明らかになった。</p> <p>第 III 章では、炎症下の肝臓におけるアクチビン B 産生細胞の同定と、アクチビン B がヘプシジン発現を誘導する機構を解明した。急性炎症を誘導したラットの肝臓では、血管内皮細胞・クッパー細胞画分で、アクチビン B 遺伝子の発現が認められたことから、血管内皮細胞あるいはクッパー細胞が、炎症下の肝臓におけるアクチビン B 産生細胞であることが明らかになった。アクチビン B はヘプシジン遺伝子発現を増加させ、アクチビン B により典型的なアクチビンシグナル分子である Smad2/3 のリン酸化のみならず、BMP シグナル経路でヘプシジン発現誘導に関わる Smad1/5/8 のリン酸化も増加した。また、BMP I 型受容体である ALK2 をノックダウンすると、アクチビン B による Smad1/5/8 のリン酸化及びヘプシジン転写の亢進が抑制された。さらに、アクチビン II 型受容体として知られる ActRIIA をノックダウンすると、アクチビン B によるヘプシジン転写ならびに Smad1/5/8 のリン酸化の亢進が抑制された。これらの結果から、アクチビン B は、ActRIIA を II 型受容体、アクチビン受容体として認知されていなかった ALK2 を I 型受容体として利用し、Smad1/5/8 リン酸化を介してヘプシジン転写を誘導することが明らかになった。</p> <p>第 IV 章では、IL-1β によるヘプシジン発現誘導機構を解明した。ヘプシジンプロモーターの長さを転写開始点に向けて短縮したレポーター遺伝子群を利用し、プロモーター上の IL-1β 応答配列を解析した結果、C/EBP ファミリーの結合配列(C/EBP-BS)が</p>			

IL-1 $\beta$  によるヘプシジン転写の誘導に必要である可能性が示された。C/EBP ファミリーに属する C/EBP $\delta$  の発現が IL-1 $\beta$  により増加し、C/EBP $\delta$  のノックダウンにより IL-1 $\beta$  誘導性ヘプシジン発現は抑制された。さらに、オリゴ DNA プルダウンアッセイにより、C/EBP-BS に結合している C/EBP $\delta$  は IL-1 $\beta$  処理下で増加した。これらの結果から、IL-1 $\beta$  により発現が増加した C/EBP $\delta$  が C/EBP-BS に結合することによって、ヘプシジン発現を誘導することが明らかになった。

ラット初代肝実質細胞では IL-1 $\beta$  により C/EBP $\delta$  の発現は増加したが、ヘプシジン発現の増加は明瞭ではなかった。マウスプロモーター上の C/EBP-BS をヒト、ラット、イヌの該当配列に置換すると、ラットの配列に置換した場合においてのみ IL-1 $\beta$  によるヘプシジン転写の亢進は抑制された。これらの結果から、ラットの C/EBP-BS は C/EBP $\delta$  に対する反応性が低いために、IL-1 $\beta$  によるヘプシジン発現誘導が起きにくいことが示唆された。

第 V 章では、本論文で解明した炎症によるヘプシジン発現誘導機構を総括するとともに、今後の展開について言及した。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 3 8 字×3 6 行で作成し、合わせて、3, 0 0 0 字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、4 0 0 ～ 1, 1 0 0 words で作成し  
審査結果の要旨は日本語 5 0 0 ～ 2, 0 0 0 字程度で作成すること。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

肝臓で発現するヘプシジンは血中鉄濃度を負に制御するホルモンであり、体内鉄蓄積量の増加に応じてヘプシジン発現が誘導されることで、鉄恒常性が維持されている。一方、炎症もまたヘプシジン発現を誘導する要因の一つであり、ヘプシジン発現の亢進が炎症性貧血発症の原因となる。炎症によるヘプシジン発現誘導機構の一つとしてインターロイキン(IL)-6 による STAT3 の活性化が知られている。しかしながら、IL-6 以外のサイトカインや STAT3 以外の経路に依存した炎症によるヘプシジン発現誘導機構については未解明な点が多かった。本論文は、炎症により発現が増加あるいは活性化する転写因子 AP-1 群と炎症性サイトカインであるアクチビン B 及び IL-1 $\beta$  が、ヘプシジン発現を誘導する機構を明らかにしたものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. AP-1 転写因子である c-fos と junB がヘプシジンプロモーター上の AP-1 応答配列である TRE に作用し、TRE と STAT3 の結合配列である STAT-BS が協調的に作用することによって、ヘプシジン転写が誘導されることを明らかにした。
2. 血管内皮細胞またはクッパー細胞が炎症下の肝臓におけるアクチビン B 産生細胞であることを明らかにした。また、アクチビン B はその II 型受容体として知られている ActRIIA 及びアクチビン受容体として認知されていなかった BMP I 型受容体である ALK2 を利用することによって、BMP シグナル分子である Smad1/5/8 の活性化を介しヘプシジン発現を誘導することを明らかにした。
3. IL-1 $\beta$  によって C/EBP $\delta$  の発現が増加し、ヘプシジンプロモーター上の C/EBP 結合配列(C/EBP-BS)との結合を介してヘプシジン発現が誘導されることを明らかにした。また、ラットのヘプシジンプロモーター上の C/EBP-BS の C/EBP $\delta$  に対する応答性は、マウス、ヒト及びイヌの C/EBP-BS の応答性より低く、そのため、ラットでは IL-1 $\beta$  によるヘプシジン発現誘導が起きにくいことを示唆した。

以上のように、本論文は炎症がヘプシジン発現を誘導する新たな分子機構を明らかにしたものであり、分子生物学、動物栄養科学、生体機構学、動物管理学の発展に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成30年1月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）